



## (医学生研究発表)細胞シートを用いた心筋組織の再生における血管新生に関わる内皮細胞の挙動解析

著者名	山下 莉奈, 関根 秀一, 清水 達也
雑誌名	東京女子医科大学女性医師・研究者支援センター女性医師支援シンポジウム2016抄録集
巻	平成28年度
ページ	10-10
発行年	2016-06-04
URL	<a href="http://doi.org/10.20780/00031982">http://doi.org/10.20780/00031982</a>

タイトル：細胞シートを用いた心筋組織の再生における血管新生に関わる内皮細胞の挙動解析

配 属 先：先端生命医科学研究所

指導教員：清水達也、関根秀一

氏 名：◎山下莉奈、関根秀一、清水達也

【背景】現在世界では心臓移植のための深刻なドナー不足が問題となっており、補助人工心臓の開発も行なわれている一方で、血栓症、感染症、機材の耐久性などの課題も存在している。これらの課題を踏まえ、現在世界では再生医療による心不全治療が期待されている。

【目的】細胞シートによる再生医療は、温度応答性培養皿を用いることで、酵素処理を行わず細胞間接着を維持したままシート状で移植可能な手法である。細胞シートはある一定以上の厚さ(約 100・ $\mu$ m)になると酸素・栄養の供給の不足、老廃物の除去が出来ないことで、細胞壊死を起こしてしまう。心不全患者の心拍出量を向上させるためには、心筋細胞シートをより多層化し収縮力を強化させることが必要であり、そのためには細胞シート内に十分な血管が存在していることが必須条件となる。本研究では細胞シート工学によるヒトの心筋組織の再生のための基礎的な検討を目的とし、細胞シートを積層化するために重要となってくる血管新生に焦点を当て、心筋細胞シート内の血管新生を促進するような培養条件の検討を行なった。

【方法】ヒト iPS 細胞から分化・誘導した心筋細胞と GFP 発現ヒト臍帯静脈内皮細胞とヒト皮膚線維芽細胞を共培養した細胞に血管新生因子を各種添加し、内皮細胞の遊走などの挙動変化を観察した。また、血管新生因子添加による他の増殖因子への影響を ELISA を用いてタンパク定量を行った。

【結果】導入した血管新生因子の濃度の違いの比較では、FGF2 は細胞の遊走性に大きな違いは見られなかったが、VEGF は血中濃度 100 倍の条件で内皮細胞の遊走性が増し、網目様構造に近づく傾向がみられた。経時的変化について血管新生因子添加 1 日後、3 日後で観察した結果、FGF2 はいずれも大きな変化は見られず、内皮細胞の数も死滅し減少することが観察された。VEGF はどちらの濃度でも 3 日目の方が細胞の遊走性が高く、特に 3 日目において細胞間結合も観察できた。また、1 サイクル目は継時的な変化が確認できたため時間の経過とともに網目構造が出来ると予想したが、2 サイクル以降は予想に反して大きな変化は確認できなかった。

ELISA による解析では、血管新生因子添加 3 日後において VEGF は FGF2 を添加したものからは検出されなかったが、FGF2 は VEGF を添加したものからも検出された。

【考察】本研究では血管新生因子添加による血管新生促進のための新たな知見が得られた。さらにこの促進効果を結論付けるには、(i) 実験試行回数を増やす、(ii) 温度変化、pH 変化、物理的な衝撃などの実験作業の影響を考慮する、(iii) 比較する血管新生因子の濃度を再検討する等が挙げられる。また細胞の遊走性の変化は血管新生因子添加後 24 時間が大きかったため、添加後 24 時間以内のタイムラプス観察も必要であると考えられる。